

第2回森和英記念計算科学研究会報告書

生体分子における振動状態の量子ダイナミクスについて

藤 崎 弘 士*

1. イントロダクション

現在では比較的大きな生体分子（以下、主にタンパク質を指す）の運動を古典力学に基づく分子動力学（MD）で追うことが可能になってきており、そういった計算をPCクラスターなどで実行することは（計算科学における）ルーチンワークとなっている。MDで生体分子の配置空間を広くサンプルしたり、ある特定の構造の周りの揺らぎを計算することで、さまざまな熱力学的な物理量を求め、それらを実験で求まる観測量と比較することができる。タンパク質などを記述するための力場（ポテンシャル関数）の精度や、MDの精度などの問題がまだ残っているが、計算と実験との対応は非常によいと言っていいだろう[1]。

ただし、こういった計算は古典力学に基づくことがほとんどであり、量子効果は無視されている。タンパク質の機能に関わるような運動はほとんどの場合、大振幅でかつ非常にスローな運動なので、そこに量子効果が効かないということは十分納得できる。しかし、タンパク質は原子でできており、そこにはプロトン移動のような量子効果が期待される運動や、原子間のボンドや変角の自由度のような量子効果が（室温でも）効く運動が存在する。本稿では主に後者の振動状態の量子ダイナミクスに注目する。というのも、最近、振動分光の実験では、こういったタンパク質内の高振動のモードをターゲットとすることが多く、しかも、そのダイナミクスまで踏み込んだような研究が出てきているからである（2節参照）。

われわれは、このようなタンパク質内の振動モードのダイナミクスを量子的に扱うための方法論を開発してきた。理論的には、量子ダイナミクスを扱うための様々なレベルの方法論があるが（レビューとしては、[2]参照）、ここでは主にわれわれの方法論と実験との比較について述べる。また、最後に展望として、より大きな系の長時間量子ダイナミクスが扱える、量子系の階層モデル（tier model）についても説明する。

2. 最近の時間分解分光実験

振動分光は分子の構造やダイナミクスを実験的に調べるための有用なツールであり、さまざまな波長領域（IR, Raman など）で各種実験手法が開発されてきた。現在ではピコ秒～フェムト秒のパルスを使うことで、分子振動の時間スケール（～数十フェムト秒）まで迫る時間分解分光が可能になってきている。その対象も気相中の分子のみならず、凝縮系（水中、膜中など）でも個別の分子をプローブすることもでき、生体分子もその例外ではない。

タンパク質の振動分光には長い歴史があるが、pump-probe 分光や 2D-IR 分光によってタンパク質の振動モードが調べられるようになったのは比較的最近である。これらの手法により、フェムト秒の時間ス

* 日本医科大学物理学教室
fujisaki@nms.ac.jp, <http://nonad.zouri.jp>

ケールでいろんな振動モードを励起、検出できるようになり、その結果を解析することで、振動モード間の結合や、熱エネルギーの流れなどを分子スケールで調べることが可能となった。それを応用することで、タンパク質の部分的な構造や、ペプチドの集合体（オリゴマー）の構造を決めることもでき、これは X 線回折法や NMR 法を補うような構造決定の手法に成長しつつある。ただし、これらの従来の方法と違うのは、より細かい時間スケール（～フェムト秒）の現象が追えるということであり、その際のダイナミクスを調べることは重要である。

世界的に見て、タンパク質の振動分光の実験を精力的に行っているのは、R. M. Hochstrasser (Univ. of Pennsylvania), G. R. Fleming (Univ. of California, Berkeley), M. D. Fayer (Stanford Univ.), R. J. D. Miller (Univ. of Toronto) らのグループとそこから派生したグループ (Hamm, Zanni, Rubtsov, Tokmakoff, Dlott ら) と言っていいだろう。また、日本では T. Kitagawa (元分子研, 現兵庫大), Y. Mizutani (大阪大) らのグループによるヘムタンパクの UV-Raman による研究や、M. Terazima (京都大) のグループによる過渡回折格子法を使った研究がある。ここでは、そういった研究の中から、比較的最近のダイナミクスと関係する事例を紹介しよう。

Peter Hamm (Univ. of Zurich) のグループは、溶液中のペプチドを用いた pump-probe 分光を行っているが、その際に、自然なペプチドでなく、ペプチドの末端にアゾベンゼンを人為的に結合させたものを調べた[3]。アゾベンゼンを UV 光で励起すると、脱励起した際に、過剰なエネルギーが発生し、それがペプチド内を伝わっていくことが予想される。しかし、それをどのように検出（検証）するか？ そのために、彼らはペプチドのアミド I モード（CO ボンドに局在している）を C と O の同位体を使ってラベルし（isotopic labeling）、周波数の違いから、どの CO ボンドをエネルギーが通ったかどうかを分光的にとらえることが可能となった。彼らの実験結果を調べると、予想通りではあるが、熱は励起したアゾベンゼンからペプチドとの接合部位にまず流れ込み、それからペプチドの別の端に拡散的に伝わっていくことが明らかとなった。また、これは Stock らによる古典力学の理論計算からもサポートされることが分かった。この事実自体はそれほどエキサイティングではないかもしれないが、分子内での「局所的な」エネルギーの流れを実験的に捉える方法を開発したという点で画期的なことである。

時代が遡るが、タンパク質内のエネルギー移動ということでは、Mizutani と Kitagawa（共に当時は分子研）のミオグロビンをを用いた実験はより先駆的なものであった[4]。彼らはミオグロビン内にある補因子であるヘムを UV 光で励起し、ヘムに結合しているリガンド（主に CO）を解離させた後、励起したヘム内の振動モードのダイナミクスを UV-Raman 分光の技術を用いて調べた。その際に、彼らは振動モードによっては緩和の時間スケールが異なることも見出した。また、その後の実験で、ヘム内の熱は大部分、ヘムに接した部分の水に流れていくことも明らかになった。ただし、この時点ではどのモードからどのモードにエネルギーが流れていくかというモード選択的（mode specific）な情報は得られていなかった。

現在は 2D-IR 分光を用いて凝縮系の分子を調べることが盛んであるが、Igor Rubtsov (Tulane Univ.) はそれを分子内のエネルギー移動を調べるために用いた。分子内にいくつかの区別される振動モードがある場合、ある振動モードを励起すると、そのエネルギーはどこに行くのか？ 全体的に散逸していくのか、それとも別の振動モードに流れていくのか？ これは化学物理では基本的な問題となる、分子内の振動エネルギー再分配（Intramolecular vibrational energy redistribution = IVR）の問題そのものであるが、

Rubtsov の方法ではまさに IVR を実験的に調べる事が可能となった。Rubtsov らは生体分子ではないが、いくつかの生体分子アナログに関して実験を行い、興味深い結果を得ている。たとえば、PBN という分子において、3 か所の振動モード (CN 振動モード, CO 振動モード, アミド I モード) に着目し、それらの間のモード選択的なエネルギーのやり取りを調べた。その結果、2 つのモード間の距離が短いほど、それらの間に流れるエネルギーの時間スケールは短いという結果を得た[5]。これは一見リーズナブルだが、まだ理論的な解明はなされていない。

最後に Miller らによるバクテリオロドプシンの量子制御の研究に触れておこう。バクテリオロドプシンは 3 次元構造の分かっている膜タンパク質の一つであり、その機能が発現する際には、内部にあるレチナールの光異性化が引き金となる。自然光でもこの光異性化の効率はよいが、Miller らはもっと制御されたレーザーパルスを用いたらどうなるかということ調べた。現在では、量子制御理論を用いた化学反応の制御が可能になっており、彼らは遺伝的アルゴリズムを用いたレーザーパルスの最適化を行って、光異性化の効率をさらに上げることができた。この結果自体はややトリビアルだが、その最適化されたレーザーパルスの周波数スペクトルを調べることで、この光異性化をアシストするようなタンパク質内の振動モードの存在が示唆された[6]。非常に面白い結果だが、これも理論的にきちんと解明されているわけではない。

以上のように、実験的に面白いタンパク質内の振動モードの存在が様々なグループから報告されており、その理論的な解明が待たれている。

3. 生体分子内の振動ダイナミクスに対する理論的アプローチ

前節に示したように、現在では時間分解振動分光を用いることで、生体分子のピコ秒のダイナミクスは徐々に明らかになってきている。ただし、タンパク質の結晶構造を知るための X 線回折実験とは異なり、数 Å の分解能で運動が解析できるわけではない。そこで、分子動力学のような分子の詳細を知ることのできる計算手法の出番となる。また、位置とは違って、エネルギーのような物理的な概念を測るためには、そこに理論的な解釈が不可欠である。しかし、時間分解の振動分光実験の結果を理論計算で完全にシミュレートしようとする、ポテンシャル面を量子化学的に正確に定め、その上で量子ダイナミクスを走らせなければならず、生体内の絡み合った運動であれば絶望的なほど難しい。そこでさまざまな近似を考えねばならない。

Straub らや Stock らはまず、ポテンシャル面は経験的な力場を用い、量子ダイナミクスは古典力学で近似できるのではないかと考えた。これはもっとも粗い近似であるが、計算自体は通常の分子動力学のプロトコルを使えばいいだけなので容易である。Sagnella と Straub は Mizutani と Kitagawa のヘムクーリングの実験を古典力学でどれくらい記述できるかということ調べた。その結果、ヘムクーリングの時間スケールや、そのエネルギー移動経路 (パスウェイ) であれば、古典力学で十分記述できることが分かった[7]。

Nguyen と Stock はこういった生体分子内のエネルギー移動を考える上で基本となるようなモデル系を古典計算で調べた[8]。そのモデル系とは、水中の *N*-methylacetamide (NMA) のことであり、これはすでに Hochstrasser のグループらによって実験的によく調べられている。彼らは基準振動を拡張した、時間依存の基準振動解析 (instantaneous normal mode analysis) を用いて、NMA 内にあるアミド I モー

ドの振動緩和を調べた。その結果、ピコ秒の時間スケールの緩和をシミュレートすることができた。ただし、それは実験結果に比べると数倍長い時間スケールである。また、彼らは励起されたアミド I モードからどのようにエネルギーが流れていくかというエネルギーのパスウェイに関しては調べなかった。

そこで、Fujisaki, Zhang, Straub は時間に依存した摂動論を使って、この問題を調べ直した。その結果として、より短い時間スケール（～サブピコ秒）の緩和定数を得ることができ、またパスウェイの問題も調べることができた。その結果、アミド I モードは主に NMA 内の振動モードにエネルギーを受け渡すことが分かった[9]。この直接的な証拠はまだないが、今後のモード選択的な振動分光実験の発展により明らかになるであろう。また、彼らは同じ方法論を用いて、チトクロム c のアミド I モードの振動緩和の問題を調べ、その際には、アミド I モードが水と接しているかどうかによって、そのエネルギー移動のパスウェイが異なる（水に接していれば水に流れる成分が増える）ことを示した[10]。また、Mizutani, Kitagawa のヘムクーリングの問題をより詳細に調べるために、ヘムの周辺を切り出したクラスターモデルを作り、その量子化学計算を実行した。そして、そのポテンシャル面から系の非線形性を計算し、時間に依存した摂動論を適用することで、クラスターモデル内の振動ダイナミクスを計算した。その結果、実験で得られたモード選択的な振る舞いを得ることができた[11]。しかし、これはまだ小規模なモデル計算であり、クラスターモデルの外側にある環境の効果を含めた計算が今後必要であろう。

また、以上の計算では、振動モードの周りの環境は静的なものを仮定していたが、振動緩和の時間スケールと環境の揺らぎの時間スケールはほぼ同じなので、その仮定をしない計算も望まれる。そこで、Fujisaki と Stock は環境が時間とともにゆらぐときの理論も構築し、その結果を NMA に適用した。その結果、静的な環境のときと比べて、振動緩和現象のよりロバストな記述ができていることが分かった[12]。

以上の計算は大部分が経験的な力場に基づいたものである。しかし、振動状態は系の非線形性が重要であり、経験的な力場はそれをかなり低く見積もっている。そこで、より進んだ計算としては、量子化学計算で非線形性をきちんと見積もる必要がある。また、量子ダイナミクス計算に関しても、摂動論を用いた計算は限界があり、非常に短い時間スケール（～ピコ秒）しか記述できない。そこで、Fujisaki, Yagi, Hirao, Straub, Stock は気相中の NMA を例にとり、これらの問題点を詳細に調べた[13]。その結果、NMA のアミド I モードの振動ダイナミクスに関しては、量子化学計算の手法を変えると、共鳴条件が異なることや、摂動論の成り立つ範囲がサブピコ秒であることが分かった。また、古典的な計算をして量子ダイナミクスと比較すると、時間スケールなどは対応する場合もあるが、そうでない場合も出てくることが分かった。つまり、摂動論や古典論は有用だが、その適用限界を理解した上で使う必要があるということである。

4. まとめと展望

われわれは時間に依存した摂動論を用いて、いくつかの生体分子内の振動ダイナミクスを計算し、実験と比較したところ（比較できる場合は）よい一致を得た。その際に重要となるのは、系のポテンシャルの非線形性である。力場を用いた計算でもそれらのある程度見積もることは可能だが、大きさを underestimate している場合があるので、量子化学計算に頼る方が（コストはかかるが）安全である。また、環境の動的な効果を入れたほうが現実的な計算になり、より大規模な量子コヒーレンスのダイナミクスを考え

る上では重要になるだろう。

今後はモデルをより大規模にし、量子化学計算もより大きな対象に対して行い、また量子ダイナミクス計算も摂動論を超えたものを用いる必要がある。まず、量子化学計算を大規模系に対して行うためには、QM/MM 法のようなマルチスケールの手法を用いる必要がある。最近のハード・ソフトの発達により、こういった計算はやりやすくなっているので、これは比較的容易に実行できる。しかし、量子ダイナミクス計算に関しては、まだまだ理論化学物理の分野でも試行錯誤の真っ最中であり、これがベストだと言えるような方法論はない。半古典論[14]、量子古典混合法[15]、VCI/VSCF 法[13]やそこから派生する方法などさまざまなアプローチが考えられるが、ここでは分子の階層モデル (tier model) を取り上げて説明したい。

分子の階層モデルは、主に Wyatt らによって、分子の高励起振動状態を記述するために持ち込まれた概念である[16]。その基本概念は、振動状態を計算する際に、各自由度に対してある基底関数を適当にとるのではなく（そうすると、計算コストが自由度に関して指数関数的に増えてしまう）、振動準位に active に関わる要素のみを取り出して、より制限された状態空間を構築するということである。その手続きとしては、ある振動状態から、非線形結合である程度以上強く結合する準位だけを抜き出す（その際には、摂動論を用いた計算から分かっているように、フェルミ共鳴が起こるような準位を優先的に取り出す）。その結果、多原子分子であっても、状態空間の次元を大幅に減らすことができ、計算効率が大幅に上がる。

この方法論は高励起状態だけでなく、第一励起状態であっても、系が大きくなれば有効となるアプローチであり、Stuchebrukhov と Marcus [17], Wolynes [18], Gruebele [19] らによって比較的大きな分子の振動緩和を計算するために用いられた。そこではアンダーソン局在とのアナロジーで、振動エネルギーの流れの、局在・非局在転移が見られたり、その転移点上で指数関数的でない、冪的な decay が観測される（計算できる）ことが分かった。この計算結果は実験との対応もよい。

われわれはこの階層モデルに、量子化学計算からの入力(調和振動数や非線形項など)を入れることで、分子のより詳細な情報を得たいと思っている。たとえば、Rubtsov の実験のような、比較的遅く（数十ピコ秒）、モード選択的なエネルギー移動を考える際に、階層モデルが役に立つのではないかと考えている。ただし、厳密に実験をシミュレートするためには、揺らいだ環境の効果も重要になるので、その際には Fujisaki, Stock [12] のような取り組みを参照する必要があるだろう。最終的には、Mizutani と Kitagawa によるミオグロビンのヘムクーリングの実験[4]に対応するような理論計算を、階層モデルと QM/MM 計算を組み合わせることで行いたいと考えている。

ここで紹介した研究は、Prof. John E. Straub (Boston Univ.), Prof. Gerhard Stock (Freiburg Univ.), 八木清講師 (山梨大学), 平尾公彦教授 (理化学研究所), Dr. Yong Zhang (Notre-Dame Univ.) らの方々との共同研究の結果を含む。また、Prof. Igor Rubtsov (Tulane Univ.), 戸田幹人准教授 (奈良女子大学), 菊地浩人准教授 (日本医科大学) らの方々との議論は有益であった。この研究は一部、科学研究費補助金・基盤研究(C)22540421 (生体分子の量子ダイナミクス：その理論的解明と制御) からの援助を受けている。

参 考 文 献

- [1] D. E. Shaw, P. Maragakis, K. Lindorff-Larsen, S. Piana, R. O. Dror, M. P. Eastwood, J. A. Bank, J. M. Jumper, J. K. Salmon, Y. Shan, and W. Wriggers, *Science* **330**, 341 (2010).
- [2] 藤崎弘士, 分子シミュレーション研究会誌アンサンブル, **11**, 25 (2009); H. Fujisaki, Y. Zhang, and J. E. Straub, *Adv. Chem. Phys.* (in press); arXiv: 1003.4796.
- [3] V. Botan, E. Backus, R. Pfister, A. Moretto, M. Crisma, C. Toniolo, P. H. Nguyen, G. Stock, and P. Hamm, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **104**, 12749–12754 (2007).
- [4] Y. Mizutani and T. Kitagawa, *Science* **278**, 443 (1997).
- [5] S. R. Naraharisetty, V. M. Kasyanenko, and I. V. Rubtsov, *J. Chem. Phys.* **128**, 104502 (2008); I. V. Rubtsov, *Acc. Chem. Res.* **42**, 1385 (2009).
- [6] V. I. Prokhorenko, A. M. Nagy, S. A. Waschuk, L. S. Brown, R. R. Birge, and R. J. D. Miller, *Science* **313**, 1257 (2006).
- [7] D. E. Sagnella and J. E. Straub, *J. Phys. Chem. B* **105**, 7057 (2001).
- [8] P. H. Nguyen and G. Stock, *J. Chem. Phys.* **119**, 11350 (2003).
- [9] H. Fujisaki, Y. Zhang, and J. E. Straub, *J. Chem. Phys.* **124**, 144910 (2006).
- [10] H. Fujisaki and J. E. Straub, *J. Phys. Chem. B* **111**, 12017 (2007).
- [11] Y. Zhang, H. Fujisaki, and J. E. Straub, *J. Chem. Phys.* **130**, 025102 (2009).
- [12] H. Fujisaki and G. Stock, *J. Chem. Phys.* **129**, 134110 (2008).
- [13] H. Fujisaki, K. Yagi, K. Hirao, and J. E. Straub, *Chem. Phys. Lett.* **443**, 6 (2007); H. Fujisaki, K. Yagi, J. E. Straub, and G. Stock, *Int. J. Quant. Chem.* **109**, 2047 (2009).
- [14] Q. Shi and E. Geva, *J. Phys. Chem. A* **105**, 2942 (2001).
- [15] T. Terashima, M. Shiga, and S. Okazaki, *J. Chem. Phys.* **114**, 5663 (2001).
- [16] R. E. Wyatt and C. Iung, in *Dynamics of Molecules and Chemical Reactions*, edited by R. E. Wyatt and J. Z. H. Zhang, (Dekker, 1996).
- [17] A. A. Stuchebrukhov and R. A. Marcus, *J. Chem. Phys.* **98**, 6044 (1993).
- [18] S. A. Schofield and P. G. Wolynes, in *Dynamics of Molecules and Chemical Reactions*, edited by R. E. Wyatt and J. Z. H. Zhang, (Dekker, 1996).
- [19] M. Gruebele, *J. Phys.: Condens. Matter* **16**, R1057-R1088 (2004).